بررسی ارتباط پلی‌مورفیسم Taq 1B در ژن کلستریل استرترانسفر پروتئین با پارامترهای سندرم متابولیک

مهشید محمدیان[۱]، محمدتقی گودرزی[۲]، مسعود سعیدی جم[۳]، جمشید کریمی[۴]
شیوا برزوئی[۵]، علیرضا سلطانیان[۶]، مرضیه شرف بیانی[۷]

تاریخ دریافت ۱۳۹۳/۰۷/۱۰ تاریخ پذیرش ۱۳۹۳/۱۰/۰۱

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: سندرم متابولیک فاکتور خطر بالقوه‌ای برای اختلالات قلبی عروقی و آترواسکلروز است، که بواسطهٔ برخی تغییرات فیزیولوژیک و متابولیک ازجمله افزایش‌تری گلیسیرید، کاهش HDL-C، افزایش LDL-C، افزایش FBS مشخص می‌گردد. کلستریل استر ترانسفر پروتئین (CETP)، انتقال لیپیدهای خنثی و فسفولیپیدها را بین لیپوپروتئین‌ها، کاتالیز می‌نماید. بنابراین، این پروتئین احتمالاً می‌تواند در تعدیل میزان پلاسمایی لیپیدها و لیپوپروتئین‌ها نقش مهمی داشته باشد. بررسی و مقایسه مطالعات انجام‌گرفته، تغییرات ژنتیکی ژن CETP و ارتباط آن‌ها با بیماری‌های سندرم متابولیک و آترواسکلروز را نشان داده است. پژوهش حاضر در افراد ایرانی مبتلا به سندرم متابولیک، جهت نشان دادن ارتباط پلی‌مورفیسم *Taq 1B* در اینترون ۱ ژن کلستریل استر ترانسفر پروتئین با سندرم متابولیک و بررسی تأثیر این پلی‌مورفیسم روی پارامترهای سندرم متابولیک انجام گردید.

مواد و روش کار: برای تعیین وجود یا عدم وجود پلی‌مورفیسم *Taq 1 1B* در ژن کلستریل استر ترانسفر پروتئین این مطالعه از تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) RFLP استفاده گردید. الگوی لیپیدی پلاسما، و سایر پارامترهای سندرم متابولیک در افراد سندرم متابولیک و سالم اندازه‌گیری گردید. برای تعیین ارتباط پلی‌مورفیسم *Taq 1B* در اینترون ۱ ژن کلستریل استرترانسفر پروتئین با سندرم متابولیک فراوانی آلل‌ها و توزیع ژنوتیپ‌های مربوط به پلی‌مورفیسم‌های فوق تعیین و در دو گروه از افراد بیمار و سالم، مقایسه شد.

یافته‌ها: یافته‌های ما تفاوت معنی‌داری در توزیع فراوانی آلل‌ها و توزیع ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم، بین گروه بیمار و کنترل نشان داد ($P<0.01$). نتایج این بررسی نشان داد که پلی‌مورفیسم *Taq 1B* در جمعیت انتخاب‌شده، همراه با سندرم متابولیک است.

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از مطالعه ما نشان می‌دهد که در بیماران سندرم متابولیک ارتباط بالقوه بین پلی‌مورفیسم Taq1B و افزایش احتمال ابتلا به سندرم متابولیک وجود دارد و این پلی‌مورفیسم در بیماران سندرم متابولیک همراه با تغییر در الگوی لیپیدها و لیپوپروتئین‌های پلاسما (برخی پارامترهای سندرم متابولیک) همراه می‌باشد.

واژگان کلیدی: CETP، سندرم متابولیک، پلی‌مورفیسم، ایران

مجله پزشکی ارومیه، دوره بیست و پنجم، شماره یازدهم، ص ۱۰۴۹-۱۰۴۱، بهمن ۱۳۹۳

آدرس مکاتبه: مرکز تحقیقات پزشکی موکولی دانشگاه علوم پزشکی همدان، همدان، ایران، تلفن: ۰۸۱۳۸۳۸۰۴۶۲
Email: mt.goodarzi@umsha.ac.ir

[۱] کارشناس ارشدبیوشیمی بالینی دانشگاه علوم پزشکی همدان
[۲] استاد بیوشیمی بالینی دانشگاه علوم پزشکی همدان (نویسنده مسئول)
[۳] دانشیار پزشکی ملکولی و بیوتکنولوژی دانشگاه علوم پزشکی همدان
[۴] استادیار بیوشیمی بالینی دانشگاه علوم پزشکی همدان
[۵] استادیار پزشکی داخلی دانشگاه علوم پزشکی همدان
[۶] دانشیار آمار زیستی دانشگاه علوم پزشکی همدان
[۷] کارشناس علوم ازمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی همدان

مقدمه

سندروم متابولیک نشانگان چندگانه‌ای است با اصطلاحات دیگری شامل، سندرم X، سندرم مقاومت به انسولین و اخیراً سندروم کاردیومتابولیک نیز شناخته می‌شود. این سندروم در بیشتر جوامع شایع می‌باشد. سندروم متابولیک بر اساس وجود سه مورد و یا بیشتر از فاکتورهای خطر ذیل تعریف شده است چاقی مرکزی دورکمر برای آقایان بیشتر از ۱۰۲ سانتی‌متر و برای خانم‌ها بیشتر از ۸۸ سانتی‌متر و HDL-C<40 mg/ dl در مردان و کمتر از 50mg/dl در زنان و میزان تری گلیسیرید >150mg/dl در هر دو جنس و فشارخون بالا (>130/85mmHg) و افرادی که دریافت‌کننده‌ی درمان اختلال فشارخون بالا می‌باشند و دارای اختلال در گلوکز خون ناشتا FBS>110mg/dl (۳-۱). سایر اختلالات مانند اختلال عمل سلول‌های اندوتلیال، هیپرانسولینمی، هیپراوریسمی، فشارخون بالا و بیماری‌های قلبی عروقی و سندروم تخمدان پلی‌کیستیک و چاقی و فشارخون بالا، دیابت نوع ۲ مرتبط با سندروم متابولیک بوده و این عوامل در ارتباط با کاهش سلامتی و کیفیت پایین زندگی هستند (۹-۴). CETP (کلستریل استر ترانسفر پروتئین) تسهیل‌کننده اصلی انتقال معکوس کلسترول است. CETP، انتقال لیپیدهای خنثی و فسفولیپیدها را بین لیپوپروتئین‌ها، کاتالیز می‌نماید. به‌وسیله این مسیر، کلسترول اضافی از بافت‌های محیطی و خارج کبدی به‌صورت HDL برداشت می‌گردد. با عملکرد طبیعی CETP، میزان LDL-C و VLDL-C در گردش افزایش می‌یابد. ازآنجایی‌که این ذرات پروآتروژنیک می‌باشند، لذا CETP به‌عنوان یک پروتئین پروآتروژنیک (Proatherogenic) معرفی می‌گردد(۵،۱۰،۱۱). از طرف دیگر کلسترول موجود در HDL توسط آنزیم LCAT به کلسترول استر تبدیل‌شده و سپس به‌وسیله CETP از HDL به لیپوپروتئین‌هایی از قبیل LDL و VLDL منتقل می‌شود و نهایتاً به کبد می‌رود. در این مورد به نظر می‌رسد که CETP آنتی آتروژنیک باشد (۲۰-۱۱). مطالعات نشان داده است در دامنهٔ طبیعی HDL در انسان، اثر آنتی آتروژنیک CETP احتمالاً مهم‌تر از اثر پروآتروژنیک آن می‌باشد. زمانیکه میزان HDL پایین باشد، CETP فاکتور محدود کنندهٔ سرعت (Rate-limiting) تشکیل Pre beta HDL می‌باشد، در حالیکه در غلظت‌های بالای HDL، پروتئین CETP اصولاً در انتقال استرکلسترول به سایر HDL ها فعالیت می‌کند (نه به LDL و VLDL). بافت چربی منبع اصلی CETP می‌باشد (۲۵-۲۱). مطالعات نشان داده‌اند که غلظت پلاسمایی CETP با توده چربی ارتباط دارد و با کاهش توده چربی سطح CETP بطور معناداری کاهش می‌یابد (۱۸). بررسی‌ها مشخص نموده که تفاوت‌های ژنتیکی ژن CETP با تغییر غلظت و فعالیت CETP ارتباط دارد و به این ترتیب روی میزان HDL-C و اندازه LDL اثر دارد (۱۹). بدین دلیل که میزان LDL-C،HDL-C و TG افزایش توده چربی بدن از فاکتورهای مهم بیماری سندرم متابولیک می‌باشد. (۲۳,۲۵)؛ بنابراین احتمالاً پلی‌مورفیسم‌های ژن CETP می‌تواند اثر مهمی در بیماریزایی سندرم متابولیک داشته باشد.

مواد و روش‌ها

افراد مورد مطالعه شامل دو گروه بیمار و سالم بودند. با توجه به فراوانی پلی‌مورفیسم‌های مذکور در مطالعات قبلی تعداد نمونه لازم ۲۴۷ مورد در هر گروه برآورد شد.

۲۴۷ بیمار با میانگین سن ۱۱/۹± ۴۹/۱۶ سال و ۲۴۷ کنترل با میانگین سنی 12.4 ± 46.3 سال مراجعه کننده به مطب پزشک متخصص غدد همدان از بهمن ماه ۱۳۹۱ تا آبان ماه ۱۳۹۲ انتخاب گردیدند. برای هر یک از بیماران پرسشنامه‌ای که حاوی اطلاعات فردی شامل جنس، سن، فشارخون سیستولی، فشارخون دیاستولی، دور کمر، قد، وزن و تست‌های بیوشیمیایی اولیه بود، تکمیل گردید. افراد مبتلا به بیماری‌های کلیوی، تیروئیدی و خانم‌های باردار و افراد مصرف کننده داروهای هایپرلیپیدمی از جمعیت مورد مطالعه حذف شدند. بیماران مراجعه کننده به مشاور بالینی پروژه که در آزمایشات پاراکلینیکی و همچنین معاینات بالینی، ابتلا آن‌ها به بیماری سندرم متابولیک تأیید می‌گردید وارد مطالعه شدند. این بیماران حداقل ۳ ویژگی از خصوصیات افراد مبتلا به سندرم متابولیک را دارا بودند (افزایش فشارخون، چاقی بویژه چاقی شکمی، افزایش TG، کاهش HDL-C، افزایش LDL-C، افزایش FBS، مقاومت به انسولین و... ...). افراد سالم شرکت کننده، در آزمایشات پاراکلینیکی و معاینات بالینی عدم ابتلا آن‌ها به بیماری سندرم متابولیک تأیید گردید. ازهر فرد (بیمار و سالم) ۱۲ میلی لیتر خون ناشتا گرفته شد. آزمایشات پاراکلینیکی بااستفاده از روش‌های روتین ازمایشگاهی روی نمونه سرم انجام گردید. استخراج DNA ژنومی با استفاده از کیت استخراج DNA سیناژن صورت گرفت. جهت بررسی کیفیت و کمیت DNA استخراج شده از روش اسپکتروفتومتری و الکتروفورز استفاده کردیم. جهت تعیین خلوص DNA از الکتروفورز بر روی ژل آگارز ۱درصد می‌توان استفاده شد. توالی پرایمرهای لازم جهت تکثیر قطعه واجد مکان پلی مورفیک *Taq 1B* در اینترون ۱ ژن CETP با استفاده از GeneBank تأیید گردید. توالی پرایمرهای (F) Forward و (R) Reverse به شرح زیر مشخص گردید و طول قطعه مورد نظر جهت تکثیر ۵۳۵ جفت باز تعیین شد:

F: 5'-CAC TAG CCC AGA GAG AGG AGT GCC-3'

R: 5'-GGC AGC CCT GAG CCC AGC CGC ACA CTA AC-3'

پرایمرها به گونه ای طراحی می‌شوند که مکمل بخش‌هایی از دو رشته DNA باشند. زمانی که دو رشته DNA در اثر حرارت از هم باز می‌شوند، پرایمرها به توالی‌های مکملشان در روی هر رشته متصل می‌شوند و سپس به کمک آنزیم DNA پلیمراز همانند

سازی صورت می‌گیرد. این پلی‌مورفیسم در ناحیه اینترون ۱ ژن CETP قرار گرفته است. یک قطعه ۵۳۵ زوج بازی با استفاده از پرایمرهای مربوط با روش PCR تکثیر گردید. این قطعه در حالت طبیعی دارای یک مکان اثر برای آنزیم *Taq 1B* می‌باشد و در صورت وجود این پلی‌مورفیسم (جایگزینی G/A)، فاقد این مکان اثر می‌گردد. **واکنش زنجیره ای پلیمراز**جهت انجام واکنش PCR مخلوط واکنش با حجم نهایی ۳۰ میکرولیتر تهیه گردید ۵/. میکرولیتر آنزیم ,Taq Polymerase۲ میکرولیتر،DNA ۰/۸ میکرولیترمنیزیم کلرید ۰/۷ میکرولیتردئوکسی نوکلوتیدتری فسفات. شرایط ترموسایکلر بر اساس *واسرشته شدن در دمای ۹۶ درجه سانتیگراد و چسپیدن در دمای ۵۶ درجه شانتیگراد و سنتز DNA در دمای ۷۲ درجه صورت گرفت*.RFLP وجود الگوهای غیریکسان است که بر اثر هضم‌آنزیمی یک ناحیهِ خاص از DNA بوسیلهِ آنزیم‌های محدودکننده (Restriction Enzyme) مشخص می‌شود.

این الگوهای‌غیریکسان به علت تفاوت DNA بسته به حضور یا عدم حضور جایگاه برش آنزیم‌های محدود کننده بوجود می‌آید. آنزیم‌های محدود کننده دسته‌ای از آنزیم‌های آندونوکلئاز به شمار می‌روند که یک ردیف اختصاصی از بازها را در درون مولکول DNA دو رشته‌ای شناسائی‌می‌کنند. برای هضم محصول PCR با آنزیم ۵,*Taq 1* میکرولیتر از محصول PCR با ۰/۴ واحد آنزیم محدود ساز*Taq 1* و ۲ میکرولیتر بافر مربوطه و ۱۲/۶ میکرولیتر آب فاقد نوکلئاز (حجم نهایی واکنش ۲۰ میکرو لیتر) مخلوط کرده به مدت ۲۴-۶ ساعت در دمای ۶۵ درجه سانتیگراد قرار داده شد. طول قطعات ایجاد شده توسط این آنزیم 174 bp و 361 bp می‌باشد این شکستگی در آلل B_1 که آلل طبیعی است اتفاق می‌افتد. **برای تائید** محصول RFLP از ladder 100 bp و ژل آگارز ۱/۵ درصد استفاده شد. محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار SpSS ۱۶ انجام شد. اطلاعات کمی به‌صورت میانگین ± انحراف معیار $(Mean \pm SD)$ ارائه گردیده است. تفاوت‌های آماری بین پارامترهای سرمی خون با استفاده از آزمون Independent Sample t-test محاسبه شد. فراوانی آلل‌های مختلف با استفاده از ژنوتیپ‌های همه نمونه‌ها محاسبه گردید. مقایسه فراوانی آللها و ژنوتیپ‌ها با استفاده از آزمون Chi-Square انجام شد. برای مقایسه میانگین غلظت لیپیدها در بین ژنوتیپ‌های مختلف از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) استفاده گردید. $P<0.05$ اختلاف معنی دار منظور گردید.

نتایج

در بررسی پارامترهای سندرم متابولیک نتایج حاصل از مطالعه ما نشان داد دو گروه از نظر تمامی خصوصیات-BMI,HDL, C,LDL-, FBS فشارخون دیاستولی، فشارخون سیستولی، اندازه دور کمر، کلسترول تام، تری گلیسیرید با یکدیگر اختلاف معناداری وجود دارد. در گروه بیماران مبتلا به سندرم متابولیک غلظت سرمی تری گلیسیرید (TG)، کلسترول تام (TC)، LDL-C، HDL-C و قند خون ناشتا (FBS) به طور معناداری بالاتر از گروه کنترل بود. جدول ۱ ویژگی‌های بالینی جمعیت مورد مطالعه رانشان داده است.

در بررسی فروانی آللی و ژنوتیپ‌های پلی‌مورفیسم *Taq 1B* اینترون توزیع سه ژنوتیپ B_1B_1, B_1B_2, B_2B_2 بین دو گروه اختلاف معنا داری را نشان داد ($P<0.05$). فراوانی آلل B_2 در کنترل ۴۵/۹ درصد و در گروه بیمار ۴۸/۳ درصد بود که اختلاف معناداری نشان نداد ($p > 0.05$). در بررسی و مقایسه ویژگیهای بالینی افراد کنترل در ژنوتیپ‌های مختلف پلی‌مورفیسم *Taq 1B* استفاده از ANOVA مشاهده شد بین پارامترهای اندازه گیری شده در میزان تری گلیسیرید در ژنوتیپ‌های CA و CC در مقایسه با ژنوتیپ AA اختلاف معنی داری وجود دارد. ویژگی‌های بالینی افراد کنترل مورد مطالعه در سه ژنوتیپ B1B1, B_1B_2, B_2B_2 پلی‌مورفیسم Taq 1B در جدول ۲ نشان داده شده است.

مقایسه ویژگیهای بالینی جمعیت کل بیماران در ژنوتیپ‌های مختلف پلی‌مورفیسم *Taq 1B* با استفاده از ANOVA صورت گرفت و مشاهده شد بین پارامترهای اندازه گیری شده در گروه بیمار در میزان کلسترول و تری گلیسیرید اختلاف معناداری وجود دارد($P<0.05$). مقایسه ویژگی‌های بالینی افراد بیمار مورد مطالعه در سه ژنوتیپ B1B1, B_1B_2, B_2B_2پلی‌مورفیسم Taq 1B در جدول ۳ نشان داده شده است.

اثر آلل B_2 بر احتمال ابتلا به بیماری سندرم متابومیک توسط روش‌های آماری مورد ارزیابی قرار گرفت نتایج نشان داده شد که در ژنوتیپ‌های $B_1 B_2 + B_2B_2$ در مقایسه با ژنوتیپ $B_1 B_1$، خطر ابتلا به این بیماری ۲/۰ برابر بیشتر است که اختلاف معناداری نشان داد. در جدول ۴ اثر پلی‌مورفیسم *Taq 1B* بر احتمال ابتلا به بیماری سندرم متابولیک نشان داده شده است.

جدول (۱): ویژگی‌های بالینی جمعیت مورد مطالعه

گروه / ویژگی	گروه کنترل (N=247)	گروه بیمار (N=247)	P- Value
سن (سال)	۴۶/۳±۱۲/۴	۴۹/۱±۱۱/۹	P=0.009
BMI (kg / m2)	۲۱/۷±۴/۲	۳۲/۲±۶/۱	P<0.0001
دور کمر(Cm)	۸۶/۲±۸/۷	۱۰۵/۱±۱۰/۶	P<0.0001
فشارخون سیستولیک(mmHg)	۱۱۸±۱۱	۱۲۹/۹±۱۱	P<0.0001
فشارخون دیاستولیک(mmHg)	۷۵/۶±۶/۸	۸۷/۱±۵/۹	P<0.0001
قند خون (mg / dl)	۸۴/۳±۸/۱	۱۰۳/۴±۳۲/۱	P<0.0001
کلسترول (mg / dl)	۱۵۶±۲۵/۲	۲۳۲/۹±۱۲۲/۹	P<0.0001
تری گلیسیرید (mg / dl)	۱۱۴/۶±۳۸	۲۴۲/۳±۱۸۱/۴	P<0.0001
HDL-C (mg / dl)	۵۱/۱±۹/۸	۵۶±۱۳/۸	P<0.0001
LDL-C (mg / dl)	۹۵/۱±۲۱	۱۲۹/۱±۳۴	P<0.0001

جدول (۲): مقایسه ویژگی‌های بالینی افراد کنترل مورد مطالعه در سه ژنوتیپB1B1 , B1B2 , B2B2 پلی‌مورفیسمTaq 1B

ویژگی	B1 B1 N=49	B1 B2 N=157	B2B2 N=68	P- Value
سن (سال)	۱۱/۴ ±۴۵/۶	۱۲/۳±۴۶/۶	۱۳/۵ ±۴۶/۰۸	P>۰/۰۵
قد (متر)	۹/۸±۱۷۵/۰۴	۹/۲±۱۷۳/۹	۸/۷±۱۷۱/۱	P>۰/۰۵
دور کمر (سانتیمتر)	۸/۷ ±۸۸/۸	۸/۲±۸۶/۳	۹/۳ ±۸۴/۴	P>۰/۰۵
فشارخون سیستولیک (mmHg)	۱۷/۸±۱۱۷/۳	۸/۶ ±۱۱۸/۷	۹/۲ ±۱۱۹/۷	P>۰/۰۵
فشارخون دیاستولیک (mmHg)	۶/۸ ±۷۵/۷	۶/۹ ±۷۵/۰۳	۶/۴ ±۷۶/۶	P>۰/۰۵
قند خون (mg/dl)	۸/۸±۸۶/۰۶	۷/۶±۸۳/۴	۸/۳ ±۸۴/۹	P>۰/۰۵
کلسترول (mg/dl)	۲۵/۰۷ ±۱۵۷/۴	۲۳/۵±۱۵۷/۳	۲۸/۴±۱۵۵/۵	P>۰/۰۵
تری گلیسیرید (mg/dl)	۳۱/۰۵ ±۱۰۷/۸	۳۷/۱±۱۱۱/۷	۴۰/۷± ۱۱۸/۴	P<۰/۰۵
HDL-C (mg/dl)	۷/۴±۵۵/۳	۷/۱ ±۵۴/۵	۷/۹ ±۵۴/۵	P>۰/۰۵
LDL-C (mg/dl)	۲۱/۵ ±۹۴/۲	۱۹/۵ ±۹۵/۰۳	۲۳/۲ ±۹۶/۵	P>۰/۰۵

جدول (۳): مقایسه ویژگی‌های بالینی افراد بیمار مورد مطالعه در سه ژنوتیپB1B1 , B1B2 , B2B2

ژنوتیپ ویژگی	B1 B1 ۵۲ N=	B1 B2 ۱۵۷N=	B2B2 ۴۳N=	P- Value
سن(سال)	۱۱/۸ ± ۵.۵۰	۱۱/۸±۴۹/۰۵	۱۳/۵±۴۶/۸	P>۰/۰۵
قد (سانتیمتر)	۲۲±۱۶۲/۳	۸/۱±۱۶۴/۵	۸/۷±۱۶۵/۳	P>۰/۰۵
دور کمر(سانتیمتر)	۱۰±۱۰۵/۷	۹/۱۰±۳/۱۰۴	۱۰۷/۳ ± ۹/۵	P>۰/۰۵
فشارخون سیستولیک (mmHg)	۱۰/۰۹± ۱۰۳/۳	۱۰/۸±۱۲۹/۸	۱۲/۹± ۱۳۱/۱	P>۰/۰۵
فشارخون دیاستولیک (mmHg)	۷/۰۹. ± ۸۶/۰۵	۵/۵±۸۷/۶	۵±۸۶/۸	P>۰/۰۵
قند خون (mg/dl)	۱۸/۱ ±۱۰۲/۱	۳۸/۲±۱۰۵/۵	۱۴/۵± ۹۸/۲	P>۰/۰۵
کلسترول (mg/dl)	۴۳/۲±۲۲۸/۳	۱۵۹/۹±۲۳۶/۶	۴۸/۹±۲۲۷/۴	P>۰/۰۵
تری گلیسیرید (mg/dl)	۱۰۸/۲±۲۳۷/۳	۱۸۶/۵±۲۳۸/۸	۲۲۸/۷±۲۶۹/۱	P<۰/۰۵
HDLC (mg/dl)	۱۱/۴±۴۸/۱	۹/۵±۴۷/۸	۶/۱±۴۹/۹	P>۰/۰۵
LDLC (mg/dl)	۲۶/۶±۱۳۰/۳	۳۴/۹±۱۲۹/۳	۴۰/۹ ±۱۲۸/۳	P>۰/۰۵
وزن(Kg)	۱۸/۸ ±۸۸/۸	۱۵/۸±۸۶/۴	۱۵/۹±۸۸/۷	P>۰/۰۵

جدول (۴): اثر پلی‌مورفیسم Taq 1B بر احتمال ابتلا به بیماری سندرم متابولیک

متغیر	Odds ratio	%۹۵CI	P- Value
B2B2+ B1B2 B1B1	۲/۰	۰/۷۲ – ۱/۶۷	۰/۰۱۰

بحث و نتیجه‌گیری

در واقع پروتئین CETP دارای نقش تعدیل کننده میزان HDL است. مطالعات بسیاری درباره نقش این پروتئین در بیماری‌های انسانی انجام شده است. مطالعات بیوشیمیایی بسیاری اثر CETP بر انتقال لیپیدها و میزان HDLدر انسان و حیوانات را تائید نموده است. در مورد اثرات مثبت افزایش HDL ناشی از کمبود ژنتیکی CETP و یا مهار این پروتئین، نتایج متضادی ارائه شده است. ازآنجایی‌که اکثر گونه‌های حیوانی فاقد پروتئین CETP فعال و عملکردی می‌باشند، لذا مطالعات روی مدل‌های حیوانی نمی‌تواند شواهد مستند را برای نقش CETP در بیماری‌ها، ارائه نماید. به منظور مطالعه و ارزیابی اثر پروتئین CETP بر متابولیسم لیپیدها، لیپوپروتئین‌ها و هم چنین بیماری‌ها، بررسی موتاسیون ها و پلی‌مورفیسم های موجود در لوکوس ژن CETP دارای اهمیت می‌باشد. تمام این بیماری‌ها به طور مستقیم و یا غیر مستقیم به لیپیدها،لیپوپروتئین‌ها و متابولیسم این ترکیبا ت مربوط می‌گردند. مهم‌ترین بیماری‌هایی که در این رابطه مطالعات زیادی در مورد آن‌ها انجام شده بیماری‌های هیپر- لیپیدمی اولیه و سندرم متابولیک و بیماری‌های قلبی – عروقی می‌باشند. سندرم متابولیک بیماری نسبتاً شایعی می‌باشد. اتیولوژی بیماری سندرم متابولیک بسیار پیچیده است. با این وجود، مشخص شده که عوامل محیطی و فاکتورهای ژنتیکی در ایجاد این بیماری نقش بسزایی دارند. مطالعات ژنتیکی مختلف نشان داده که نواحی کروموزومی ژن‌های متعددی می‌تواند با این سندرم در ارتباط باشد، از قبیل LPL،APOA5 (لیپو پروتئین لیپاز)،PPAR،APOE،APOA1(Peroxisome Proliferator_ activated receptor) و..... (۱۲). با توجه به نقش مهم پروتئین CETP در متابولیسم لیپوپروتئین‌ها، تصور شد تغییرات ژنتیکی ژن CETP، با بیماری سندرم متابولیک در ارتباط باشد. **در** مطالعه

حاضر فراوانی سه ژنوتیپ B_1B_1، B_1B_2 و B_2B_2 پلی‌مورفیسم *Taq 1B* اینترون ۱ ژن CETP بین گروه کنترل و جمعیت بیماران سندروم متابولیک اختلاف معنی داری نشان داد ($P<0.05$). فراوانی آلل B_2 در گروه کنترل ۴۵/۹درصد، جمعیت بیماران ۴۸/۳درصد بوده که نشاند دهنده تفاوت معنی‌داری بین گروه کنترل و جمعیت بیمارانمی باشد. بررسی اثر این پلی‌مورفیسم بر احتمال ابتلا به بیماری سندرم متابولیک نشان می‌دهد که در افراد هموزیگوت با ژنوتیپ B_2B_2 خطر ابتلا به این بیماری ۲/۰ برابر بیشتر است. در بررسی ویژگی‌های بالینی مانند سن، دور کمر، فشارخون سیستولیک و دیاستولیک، قند خون ناشتا (FBS) تری گلیسیرید، کلسترول، LDL-C، و HDL-C در سه ژنوتیپ B_1B_1 ، B_1B_2 و B_2B_2 پلی مورفسیم *Taq 1B* اینترون ۱ ژن CETP در افراد بیمار بین پارامترهای تری گلیسیرید و کلسترول در سه ژنوتیپ مورد بررسی اختلاف معناداری وجود دارد($P<0.05$). میانگینLDL-c, فشارخون سیستولیک و تری گلیسیرید در بیماران سندرم متابولیک با ژنوتیپ B_2B_2 بالاتر بود.

مطالعه ما نشان داد که پلی‌مورفیسم Taq1B دارای اثر مثبت روی روند پیشرفت سندرم متابولیک داراست. درواقع می‌توان نتیجه‌گیری نمود که این پلی‌مورفیسم باعث افزایش احتمال ابتلا به سندرم متابولیک می‌شود. این پلی‌مورفیسم در ارتباط با تغییراتی در برخی از پارامترهای درگیر در سندرم متابولیک است و می‌تواند یکی از عوامل تشدید کننده عوارض درگیر در سندرم متابولیک باشد. دیس لیپیدمیا درگیر در بیماران مورد مطالعه مرتبط با این پلی‌مورفیسم می‌تواند نشاندهنده نقش پرواتروژنیک این پلی‌مورفیسم در سندرم متابولیک باشد.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از معاونت تحقیقات و فنآوری دانشگاه علوم پزشکی همدان جهت تأمین بودجه این مطالعه تشکر و قدردانی می‌نمایند. همچنین از سرکار خانم نوشین شباب جهت کمک و راهنمائی در انجام آزمایش‌ها سپاسگزاری می‌گردد. این مقاله بخشی از نتایج پایان نامه کارشناسی ارشد خانم مهشید محمدیان می‌باشد.

References:

1. Goodarzi MT, Mohammadian M, Borzouei Sh,Hassanzadeh T. Association between plasma cholesteryl ester transfer protein activity and lipid profiles in metabolic syndrome in an Iranian population. Int Res J biological sci 2014,3:4.
2. Akbarzadeh M, Hassanzadeh T, Saidijam M, Esmaeili R, Borzouei S, Hajilooi M, et al. Cholesteryl ester transfer protein (CETP) -629C/A polymorphism and it's effects on the serum lipid levels in metabolic syndrome patients. Mol Biol Rep 2012;39(10):9529–34.
3. Agellon LB, Quinet EM, Gillette TG, Drayna DT, Brown ML, Tall AR. Organization of the human cholesteryl ester transfer protein gene. Biochemistry 1990;29(6):1372–6.
4. López-Ríos L, Nóvoa FJ, Chirino R, Varillas F, Boronat-Cortés M, Wägner AM. Interaction between cholesteryl ester transfer protein and hepatic lipase encoding genes and the risk of type 2 diabetes: results from the Telde study. PLoS ONE 2011;6(11):e27208.
5. Weber O, Bischoff H, Schmeck C, Böttcher M-F. Cholesteryl ester transfer protein and its inhibition. Cell Mol Life Sci 2010;67(18):3139–49.
6. Hassanzadeh Ghasabeh T, Firoozrai M, Ehsani Zonouz A, Paoli M. Association between cholesteryl ester transfer protein Taq1B polymorphism with lipid levels in primary hyperlipidemic patients. Eur. J Lipid Sci Technol 2008, 110, 225-31.
7. Tall AR, Plasma cholesteryl ester transfer protein. J Lipid Res 1993; 34:1255-74.
8. Klerkx AHEM, Tanck MWT, Kastelein JJP, Molhuizen HOF, Jukema JW, Zwinderman AH, et al. Haplotype analysis of the CETP gene: not TaqIB, but the closely linked -629C-->A polymorphism and a novel promoter variant are independently associated with CETP concentration. Hum Mol Genet 2003;12(2):111–23.
9. Sirdah MM, Al Laham NA, Abu Ghali AS. Prevalence of metabolic syndrome and associated socioeconomic and demographic factors among

Palestinian adults (20-65 years) at the Gaza Strip. Diabetes Metab Syndr 2011;5(2):93–7.

10. Bernard M, Cheung Y, Chao Li. Diabetes and Hypertension: Is There a Common Metabolic Pathway? Curr Atheroscler Rep 2012 ;14(2):160-6.
11. Le Goff W, Guerin M, Nicaud V, Dachet C, Luc G, Arveiler D, et al. A novel cholesteryl ester transfer protein promoter polymorphism (971G/A) associated with plasma high-density lipoprotein cholesterol levels. Interaction with the TaqIB and -629C/A polymorphisms. Atherosclerosis 2002;161(2):269–79.
12. Bal SS, Khurana D, Sharma A, Lal V, Bhansali A, Prabhakar S. Association of metabolic syndrome with carotid atherosclerosis in the young North Indian population. Diabetes Metab Syndr 2011;5(3):153–7.
13. Ford ES, Li C. Metabolic syndrome and health-related quality of life among U.S. adults. Ann Epidemiol 2008;18(3):165–71.
14. Grant T, Soriano Y, Marantz PR, Nelson I, Williams E, Ramirez D, et al. Community-based screening for cardiovascular disease and diabetes using HbA1c. Am J Prev Med 2004;26(4):271–5.
15. Kolovou GD, Anagnostopoulou KK, Cokkinos DV. Pathophysiology of dyslipidaemia in the metabolic syndrome. Postgrad Med J 2005;81:358–66.
16. Yamada Y, Kato K, Hibino T, Yokoi K, Matsuo H, Segawa T, et al. Prediction of genetic risk for metabolic syndrome. Atherosclerosis 2007;191(2):298–304.
17. Nestel P. Metabolic syndrome: Multiple Candidate genes, Multiple environmental factors, Multiple syndrome. Int J Clin Pract Suppl 2003;(134):3-9.
18. Al-Daghri NM, Al-Attas O, Patel A, Belyaev ND, Bartlett WA, Jones AF, et al. Association between the cholesteryl ester transfer protein TaqI-detectable B polymorphism and low high-density lipoprotein cholesterol concentration in Saudis. Clin Sci 2003;105(4):467–72.
19. Yamashita S, Hirano K, Sakai N, Matsuzawa Y. Molecular biology and pathophysiological aspects of plasma cholesteryl ester transfer protein. Biochim Biophys Acta 2000; 1529: 257-75.
20. Kiran M, Anoop M, Pandey c, Kalpana L et al. CETP TaqIB polymorphisms and CETP activity in normolipidemic healthy northern Indians. Clinical Research. 2007; 1: 239-244
21. Mohamed Y. Elsammak A, Rania M. Al-Sharkaweey a, Mohamed F. Taq 1B polymorphism of cholesteryl ester transfer protein (CETP) in Egyptian patients with metabolic syndrome. Clin Res 2011; 5: 61–5.
22. Yilmaz H, Isbir T, Agachan B, Karaali ZE. Effects of cholesterol ester transfer protein Taq1B gene polymorphism on serum lipoprotein levels in Turkish coronary artery disease patients. Cell Biochem Funct 2005;23(1):23–8.
23. Li TY, Zhang C, Asselbergs FW, Qi L, Rimm E, Hunter DJ, et al. Interaction between dietary fat intake and the cholesterol ester transfer protein TaqIB polymorphism in relation to HDL-cholesterol concentrations among US diabetic men. Am J Clin Nutr 2007;86(5):1524–9.
24. Ozsait B, Kömürcü Bayrak E, Poda M, Can G, Hergenç G, Onat A, et al. CETP TaqIB polymorphism in Turkish adults: association with dyslipidemia and metabolic syndrome. Anadolu Kardiyol Derg 2008;8(5):324–30.
25. Lu H, Inazu A, Moriyama Y, Higashikata T, Kawashiri MA, Yu W et al. Haplotype analyses of cholesteryl ester transfer protein gene promoter: a clue to an unsolved mystery of Taq IB polymorphism. J Mol Med 2003; 81: 246-55.
26. Lottenberg AM, Nunes VS, Nakandakare ER, Neves M, Bernik M, Lagrost L, et al. The human cholesteryl ester transfer protein I405V

27. Pan S-L, Wang F, Lu Z-P, Liu C-W, Hu C-Y, Luo H, et al. Cholesteryl ester transfer protein TaqIB polymorphism and its association with serum lipid levels and longevity in Chinese Bama Zhuang population. Lipids Health Dis 2012;11:26.

polymorphism is associated with plasma cholesterol concentration and its reduction by dietary phytosterol esters. J Nutr 2003;133(6):1800-5.

Original Article

TAQ 1B POLYMORPHISM IN CHOLESTEROL ESTER TRANSFER PROTEIN AND ITS ASSOCIATION WITH METABOLIC SYNDROME PARAMETERS

Mahshid Mohamadian[1], Mohammad Taghi Goodarzi[2], Massoud Saidijam[3], Jamshid Karimi[4], Shiva Borzouei[5], Alireza Soltanian[6], Marzieh Sharaf Biani[7]*

Received: 2 Oct, 2014; Accepted: 22 Dec, 2014

Abstract

Background & aims: Metabolic Syndrome (MetS) is a potential threatening factor for cardiovascular disorders and atherosclerosis which is accompanied by increase in plasma triglyceride, cholesterol, low density lipoproteins (LDL-c), fasting blood sugar (FBS) and low high density lipoproteins (HDL-c). Cholesteryl ester transfer protein (CETP) catalysis transfer of lipids and phospholipids between lipoproteins. CETP can have a significant role in balancing the quantity of plasma lipids and lipoproteins. The present survey attempted to show the association of Taq1B polymorphisms in CETP gene with metabolic syndrome parameters an Iranian population.

Materials &Methods: In order to identify the association between the Taq1B polymorphisms of this gene and the lipid pattern of plasma and other parameters of MetS, the quantity of lipids in metabolic syndrome subjects (N=247) and healthy individuals (N=247) were measured. The abundance of alleles and genotypic distribution of the Taq1B polymorphisms were defined along with comparison between two control and patient groups. Blood samples were collected followed by routine biochemical analysis. DNA extraction was performed. Polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism was applied to identify Taq1B polymorphism. Statistical analyses were applied using SPSS software.

Results: Lipid pattern of plasma and other parameters of MetS showed significant differences between the patient and control groups. Also the abundance of alleles and genotypic distribution of polymorphism showed a significant difference between two groups. Taq1B polymorphism was accompanied with MetS.

Conclusion: The results confirm that in MetS patients, this genetic mutation in CEPT gene is accompanied with change in lipid profile and other MetS parameters. Our study suggests the promoting effect of Taq1B polymorphism in process of MetS disorder. We indicated this polymorphism can increase occurrence of metabolic syndrome. Our results showed Taq1B polymorphism is associated with some MetS associated variables in our population.

Keywords: Cholesteryl ester transfer protein, Metabolic Syndrome, Polymorphism

Address: Research Center for Molecular Medicine, Hamadan University of Medical Sciences Hamadan Iran, Tel: +988138380462
Email: mt.goodarzi@umsha.ac.ir

SOURCE: URMIA MED J 2015: 25(11): 1049 ISSN: 1027-3727

[1] *MSc in Clinical Biochemistry, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran*
[2] *Professor, Clinical Biochemistry Department, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran*
[3] *Associate Professor, Molecular Medicine Department, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran*
[4] *Assistant Professor, Clinical Biochemistry Department, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran*
[5] *Assistant Professor, Internal Medicine Department, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran*
[6] *Associate Professor, Biostatistics Department, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran*
[7] *BSc in Laboratory Medicine, Hamadan University of Medical Sciences, Hamadan, Iran*